

## بررسی سروایپدمیولوژیکی هیداتیدوزیس (کیست هیداتیک) انسانی در استان ایلام با روش Dot-ELISA

آیدا افلاکی<sup>۱</sup>، فاطمه غفاری فر<sup>۲\*</sup>، عبدالحسین دلیمی اصل<sup>۳</sup>

۱- کارشناس ارشد گروه انگل شناسی دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

۲- استادیار گروه انگل شناسی دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

۳- استاد گروه انگل شناسی دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

### چکیده

هدف: از این مطالعه بررسی وضعیت آلودگی به کیست هیداتیک در انسان، در غرب کشور یعنی استان ایلام است. بنابراین، تعداد سه هزار نفر از نقاط مختلف شهری، روستایی و عشايری استان ایلام بررسی شدند.

روش کار: بدین ترتیب بود که ابتدا از تمام افراد مورد مطالعه پس از تکمیل پرسشنامه، نمونه خون گرفته شد و سرم تمام افراد در رقت ۱:۴۰۰ با تست Dot-ELISA آزمایش و سپس نتایج با تست ELISA تأیید شد.

نتایج: نتایج به دست آمده نشان داد که از جمیوع سه هزار نفر افراد مورد مطالعه ۳۷ نفر (۱/۲%) به تست Dot-ELISA واکنش مثبت نشان دادند؛ از این افراد، ۹ نفر (۶/۵٪) از جمیوع شهری، ۲۱ نفر (۱/۵٪) از جمیوع روستایی و ۷ نفر (۱۰/۷٪) از جمیوع عشايری بودند؛ همچنین ۱۱/۷۴٪ زنان و ۱٪ مردان جمیوع تحت مطالعه با این روش مثبت بودند و بیشترین درصد آلودگی در گروه سنی بیست تا سی سال (۲/۶٪) مشاهده شد. براساس این مطالعه میان درصد آلودگی به کیست هیداتیک در سه جمیوع شهری، روستایی و عشايری از نظر آماری اختلاف معناداری مشاهده شد. همچنین اختلاف درصد آلودگی گروه سنی بیست تا سی سال با گروههای سنی دیگر بوضوح معنادار بود. اما بین درصد آلودگی به کیست هیداتیک و جنس اختلاف معنادار آماری مشاهده نشد. علت درصد بالای آلودگی در جمیوع عشايری را می‌توان تماس مداوم عشاير با سگ و دام تفسیر کرد. به طور معمول در زندگی عشايری سگها به منظور مراقبت از گله یا مراقبت از سیاه چادرها در مجاورت انسان زندگی می‌کنند. بنابراین، سگهای آلود براحتی می‌توانند انسانها را آلوده کنند.

کلید واژگان: کیست هیداتیک، الیزای نقطه‌ای، سروایپدمیولوژی، ایلام.

### ۱- مقدمه

بیشتر مناطق گرمسیر و نیمه گرمسیر دنیا انتشار دارد. آلودگی در کشورهای حوزه مدیترانه، روسیه، خاورمیانه، خاور دور، استرالیا، زلاندنو، آمریکا و افریقا وجود دارد [۶-۴].

این بیماری از تمام استانهای کشور با بالاترین میزان آلودگی در انسان (۴/۵ در صدهزار) از استان خراسان و کمترین آن (۰/۱)

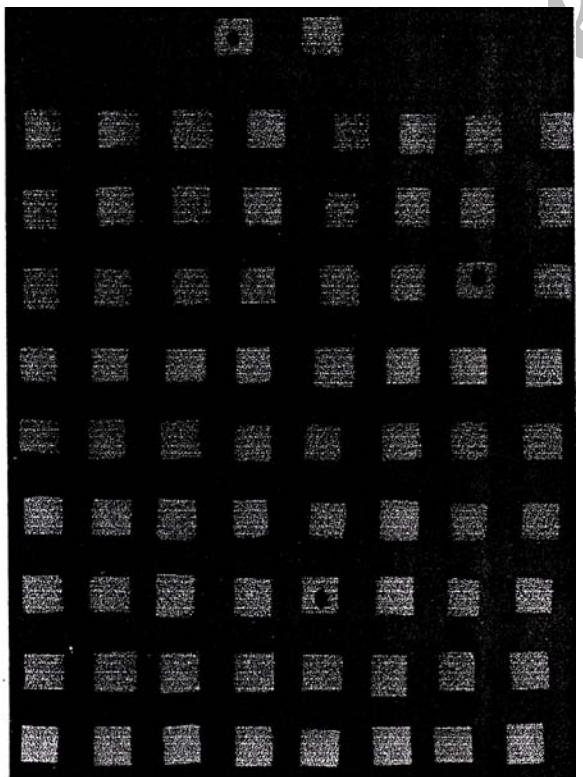
هیداتیدوزیس یکی از مهمترین بیماریهای مشترک بین انسان و دام است [۱]. این بیماری در بیشتر نقاط جهان بسویژه در کشورهایی که در آنها دامپروری رایج است، شایع می‌باشد. این امر سالیانه زیانهای بهداشتی و اقتصادی زیادی را به دنبال می‌آورد [۲، ۳]. آلودگی به این انگل ضمن گسترش جهانی، در

\* نشانی مکاتبه: تهران، تقاطع بزرگراه جلال آل احمد و شهید چمران، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم پزشکی. تلفن: ۰۲۱۱۰۰۱، ۰۲۱۱۰۰۰، دورنگار: ۰۲۱۱۳۰۳۰.

E-mail: ghaffarifar@yahoo.com

آماده‌سازی کاغذ نیترو سلولز در وسط آن  $3\text{ }\mu\text{l}$  آنتی‌ژن قرار داده شد و پس از قرار دادن آن در دمای  $4^{\circ}\text{C}$  به مدت ۵ دقیقه و خشک شدن آنتی‌ژن، کاغذ در محلول بلوکه کننده قرار گرفت. این محلول حاوی آلبومین سرم گاوی ۱٪ یا شیر خشک بدون چربی ۱٪ تهیه شده در بافر TBST (تریس بافر سالین و توین) است. مدت نگهداری کاغذ در محلول بلوکه کننده ۱-۲ ساعت در دمای اتاق یا یک شبانه‌روز در  $4^{\circ}\text{C}$  بود. سپس ۲ ساعت در دمای اتاق یا یک شبانه‌روز در  $4^{\circ}\text{C}$  در TBST سه بار و هر بار ۱۰ دقیقه بر روی شیکر شستشو کاغذ با TBST سه بار و هر بار ۱۰ دقیقه بر روی شیکر شستشو داده شد. رقت ۱:۴۰۰ از سرمهای مورد مطالعه، همچنین سرمهای کنترل مثبت و کنترل منفی روی کاغذ نیتروسلولز ریخته شد و پس از ۲ ساعت انکوبه کردن در  $37^{\circ}\text{C}$ ، کاغذها شستشو داده شدند. در مرحله بعد با آنتی‌هیومن IgG کنزوگه با HRP (تهیه شده از شرکت سیگما) که به نسبت ۱:۶۰۰۰ رقیق شده بود، به مدت ۲ ساعت در حرارت اتاق یا ۱ ساعت در  $37^{\circ}\text{C}$  انکوبه و سپس شستشو شد. سپس کاغذها را در تاریکی درون سویسترای دی آمینو بنزیدین (تهیه شده از شرکت داکو) در رقت ۵mg/ml قرار داده و پس از ظاهر شدن رنگ با اضافه کردن آب مقطر واکنش متوقف شد (شکل ۱).

کنترل منفی      کنترل مثبت



شکل ۱ نمونه‌ای از سرمهای آزمایش شده با روش Dot-ELISA از شهر مهران

در صدهزار) از استان هرمزگان گزارش شده است. برای کل کشور میزان متوسط موارد جراحی  $1/2$  در صدهزار تعیین شده است [۵].

به علت پراکنده بودن اندامهای آلدود در بدن و نبودن یک راه تشخیص قطعی، روش‌های ایمونولوژیک در تشخیص بسیار مفید هستند [۷-۹]. مناسبترین ایمونوگلوبولین برای آشکارسازی بیماری هیداتیدوزیس IgG است زیرا سطح آن در خون حتی تا مدت‌ها پس از جراحی یا درمان دارویی بالا می‌باشد [۹, ۱۰].

Dot-ELISA یکی از روش‌های سروولوژیک برای تشخیص هیداتیدوزیس است که داشتن امتیازاتی مانند حساسیت و ویژگی بالا، عدم نیاز به دستگاه بازخوان برای مشاهده نتایج و قابلیت اجرا برای حجم زیادی از نمونه در یک زمان، آن را برای مطالعات سرواپیدمیولوژیک مناسب می‌کند.

در این مطالعه از روش Dot-ELISA برای تعیین میزان آلدودگی ساکنان استان ایلام در مناطق شهری، روستایی و عشايري به کیست هیداتیک استفاده شد.

## ۲- مواد و روش کار

### ۱-۲- مطالعه جمعیت‌شناسی و نحوه نمونه‌گیری

بر طبق آخرین سرشماری در سال ۱۳۷۵ جمعیت کل استان ۴۸۷۸۸۶ نفر، جمعیت شهری ۱۳۱۸۲۸، جمعیت روستایی ۳۳۵۷۰۰ و جمعیت عشايري ۱۰۵۶۵ نفر بود و با توجه به نتایج بهدست آمده از مطالعه رفیعی و همکاران در خوزستان در سال ۱۳۷۸ میزان شیوع ۱/۸٪ گزارش شده است [۱۱]. حجم نمونه با استفاده از رابطه آماری و دقت ۹۵٪، ۳۰۰۰ نمونه بهدست آمد. سپس در هر منطقه متناسب با جمعیت نمونه‌گیری ابتدا به صورت خوشهای و داخل هر خوشه به صورت تصادفی ساده انجام شد. از افراد تحت مطالعه پس از تکمیل پرسشنامه نمونه خون گرفته شد و سرم افراد برای آزمایش Dot-ELISA جمع‌آوری گردید؛ سپس نتایج بهدست آمده با روش ELISA تأیید شد.

### ۲-۲- روش انجام آزمایش Dot-ELISA

ابتدا آنتی‌ژن نسبتاً خالص با غلظت ۱mg/ml تهیه شد، این آنتی‌ژن مخلوطی از آنتی‌ژنهای ب و آرک ۵ بود [۱۲]. پس از

شد. پس از آن  $50 \mu\text{l}$  محلول متوقف کننده یعنی اسید سولفوریک  $1/25\text{M}$  به هر چاهک اضافه گردید. میزان جذب نوری در طول موج  $492\text{nm}$  با دستگاه خوانده شد [۱۴، ۱۳].

### ۳- نتایج

جدول ۱ درصد آلودگی به کیست هیداتیک را با آزمون Dot-ELISA در شهرستانهای استان ایلام به تفکیک جمعیت شهری، روستایی و عشایری نشان می‌دهد. از مجموع  $3000$  نفری که با این آزمون آزمایش شدند  $37$  نفر ( $1/2\%$ ) به این آزمون واکنش مثبت نشان دادند که  $9$  نفر جمعیت شهری ( $0.056\%$ )،  $21$  نفر جمعیت روستایی ( $0.157\%$ ) و  $7$  نفر جمعیت عشایری ( $10.77\%$ ) بودند. بیشترین میزان آلودگی در شهرستان مهران ( $11.3\%$ ) و کمترین میزان در شهرستان آیلام ( $0.036\%$ ) مشاهده شد. اختلاف آماری بین نتایج مثبت و منفی در میان سه قشر شهری، روستایی و عشایری با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یکطرف معنادار بود (جدول ۱).

### ۲-۳- روش انجام آزمایش ELISA

ابتدا  $100 \mu\text{l}$  از سوسپانسیون آنتی‌ژنی که با غلاظت  $10 \mu\text{l}/\text{ml}$  در بافر کربنات-بی‌کربنات ( $1\text{M}$  و  $\text{pH } 9/6$ ) تهیه شده بود به همه چاهکهای پلیت پلی استیرنی اضافه و سپس پلیت به مدت  $1$  ساعت در  $37^\circ\text{C}$  یا یک شب در  $4^\circ\text{C}$  انکوبه شد. پس از شستشو  $200 \mu\text{l}$  محلول بلوکه کننده (باfer TBST همراه با آلبومین سرم گاوی یا شیر خشک بدون چربی  $1\%$ ) به چاهکها اضافه و پلیت به مدت  $1$  ساعت در  $37^\circ\text{C}$  انکوبه گردید. پس از شستشو سرم با رقت  $1:400$  به میزان  $100 \mu\text{l}$  به هر چاهک اضافه و به مدت  $1$  ساعت در  $37^\circ\text{C}$  نگهداری شد. پس از شستشو دوباره و اضافه کردن  $100 \mu\text{l}$  آنتی‌هیومن G Ig کژوگه با HRP (تهیه شده از شرکت سیگما) با رقت  $1:6000$ ، به مدت  $2$  ساعت در حرارت اتاق یا  $1$  ساعت در  $37^\circ\text{C}$  انکوبه گردید. مجدداً پس از شستشو  $100 \mu\text{l}$  سوبسترای OPD (تهیه شده از شرکت داکو) با غلاظت  $1\text{mg/ml}$  به هر چاهک اضافه و پلیت به مدت  $20$  دقیقه انکوبه

جدول ۱ درصد آلودگی به کیست هیداتیک در شهرستانهای استان ایلام به تفکیک جمعیت شهری، روستایی و عشایری

شهر	مشیت	منفی	درصد آلودگی	جمع کل *			روستایی *			شهری *			مشیت	منفی	درصد آلودگی
				عشایر	منفی	درصد آلودگی	مشیت	منفی	درصد آلودگی	مشیت	منفی	درصد آلودگی			
ایلام			$0.036$	$1010$	$8$	$0.00$	$2$	$0$	$1/46$	$202$	$3$	$0.62$	$805$	$5$	
مهران			$11.3$	$280$	$9$	$15/38$	$22$	$4$	$2/68$	$109$	$3$	$1/32$	$149$	$2$	
دهلران			$0.025$	$316$	$4$	$11/11$	$16$	$2$	$0/99$	$100$	$1$	$0/50$	$200$	$1$	
در شهر			$0.022$	$325$	$4$	$0.00$	$4$	$0$	$1/89$	$208$	$4$	$0/00$	$113$	$0$	
آبدانان			$0.023$	$289$	$6$	$10/00$	$9$	$1$	$2/63$	$148$	$4$	$0/75$	$122$	$1$	
ایوان			$0.036$	$280$	$1$	$0.00$	$4$	$0$	$0/75$	$132$	$1$	$0/00$	$144$	$0$	
شیروان چردابول			$0.007$	$473$	$5$	$0.00$	$1$	$0$	$1/18$	$417$	$5$	$0/00$	$45$	$0$	
استان ایلام			$0.023$	$2963$	$37$	$10/77$	$58$	$7$	$1/57$	$1317$	$21$	$0/56$	$1588$	$9$	

\* اختلاف آلودگی درصد ابتلا به کیست هیداتیک در میان جمعیتهای شهری، روستایی و عشایری از نظر آماری معنادار است.

اختلاف آماری میان درصد ابتلا به کیست هیداتیک در دو جنس با استفاده از آزمون  $t$  معنادار نبوده است.

جدول ۲ درصد آلودگی به کیست هیداتیک در میان مردان و زنان استان ایلام را نشان می‌دهد. براساس این جدول  $1/47\%$  از زنان و  $1\%$  از مردان به این آزمون واکنش مثبت نشان دادند.

جدول ۲ درصد آلدگی به کیست هیداتیک در میان مردان و زنان استان ایلام به تفکیک جمعیت شهری، روستایی و عشایری

استان ایلام					
جمع کل	عشایری	روستایی	شهری		
۲۲	۳	۱۲	۷	مشبт	زن
۱۴۷۵	۳۰	۶۵۶	۷۸۹	منفی	
۱/۴۷	۹/۰۹	۱/۸۰	۰/۸۸	درصد آلدگی	
۱۵	۴	۹	۲	مشبт	مرد
۱۴۸۸	۲۸	۶۶۱	۷۹۹	منفی	
۱/۰۰	۱۲/۵۰	۱/۳۴	۰/۲۵	درصد آلدگی	
۳۷	۷	۲۱	۹	مشبт	جمع کل
۲۹۶۳	۵۸	۱۳۱۷	۱۵۸۸	منفی	
۱/۲۳	۱۰/۷۷	۱/۵۷	۰/۵۶	درصد آلدگی	

مشاهده می شود. بین درصد آلدگی در گروههای سنی مختلف با استفاده از روش آنالیز واریانس یک مرحله، اختلاف آماری معنادار مشاهده شد ( $P < 0.05$ ).

جدول ۳ درصد آلدگی به کیست هیداتیک را در استان ایلام به تفکیک گروه سنی با آزمون Dot-ELISA نشان می دهد. کمترین درصد آلدگی در گروه سنی زیر بیست سال (۰/۲۶٪) و بیشترین درصد آلدگی در گروه سنی بیست تا سی سال (۰/۲۷٪)

جدول ۳ درصد آلدگی به کیست هیداتیک در مردان و زنان استان ایلام به تفکیک گروه سنی

جمع کل				مرد				زن				رده سنی
درصد آلدگی	منفی	مشبт										
۰/۳۶	۸۱۹	۳	۰/۲۶	۳۸۱	۱	۰/۴۵	۴۳۸	۲	۰/۲۶	۴۳۸	۲	کمتر از ۲۰
۲/۶۷	۴۷۴	۱۳	۲/۲۳	۲۵۲	۶	۳/۰۶	۲۲۲	۷	۰/۲۶	۲۲۲	۷	*۲۰-۳۰
۱/۶۲	۶۶۸	۱۱	۱/۱۵	۳۴۵	۴	۲/۱۲	۳۲۳	۷	۰/۲۶	۳۲۳	۷	۳۰-۴۰
۱/۷۱	۴۰۲	۷	۰/۸۶	۲۲۱	۲	۲/۸۴	۱۷۱	۵	۰/۲۶	۱۷۱	۵	۴۰-۵۰
۰/۴۷	۶۳۷	۳	۰/۶۸	۲۹۱	۲	۰/۲۹	۳۴۶	۱	۰/۲۶	۳۴۶	۱	۵۰-۶۰
۱/۲۲	۳۰۰۰	۳۷	۰/۹۹	۱۵۰۰	۱۵	۱/۴۵	۱۵۰۰	۲۲	۰/۲۶	۱۵۰۰	۲۲	جمع کل

\* اختلاف آلدگی میان درصد ابتلا به کیست هیداتیک در میان رده سنی ۲۰ تا ۳۰ سال با ردههای سنی دیگر از نظر آماری معنادار است.

خاورمیانه، اروپای جنوبی و مرکزی، چین و افریقا غیر قابل

چشم پوشی است. در کشور ما نیز هیداتیدوز دامی و انسانی شیوع چشمگیری دارد. در این بیماری که انسان میزبان واسطه می باشد، تشخیص مراحل لاروی انگل اغلب با استفاده از روشهای سرولوژیک امکانپذیر است.

تحقیق حاضر، اولین تحقیق سرواپیدمیولوژی بیماری کیست هیداتیک

#### ۴- بحث

در حال حاضر هیداتیدوزیس یکی از مهمترین بیماریهای انگلی دنیا به شمار می رود. این بیماری در هر پنج قاره با گسترده‌گی قابل ملاحظه ای مشاهده می شود. خسارتنهای بهداشتی و اقتصادی ناشی از این بیماری در بیشتر نقاط دنیا بخصوص

کردنده [۲۰].

یافته‌های این بررسی درصد نسبتاً بالای آلدگی را در عشاپر نشان می‌دهد؛ این امر به علت تماس دائمی این افراد با سگ و دام است که باعث تکرار چرخه تکاملی انگل می‌شود. سگ یکی از ارکان مهم در زندگی عشاپری است که یا به منظور موازبت از گله یا مراقبت از سیاه چادرها نگهداری می‌شود.

براساس نتایج به دست آمده از این تحقیق بیشترین درصد آلدگی در شهرستان مهران (۳۱٪) و کمترین درصد آلدگی در شهرستان ایوان (۳۶٪) گزارش شده است. علت این اختلاف این است که بیشترین جمعیت عشاپری استان در شهرستان مهران و کمترین جمعیت عشاپری در شهرستان ایوان مرکز است.

در این تحقیق سعی شده است، با توجه به اهمیت کیست هیداتیک و دوره نهفتگی طولانی این بیماری از یک روش سرولوژیکی ساده و امکانپذیر در مطالعات میدانی، یعنی روش Dot-ELISA، برای تشخیص سریع این بیماری استفاده شود. Dot-ELISA به علت دارا بودن امتیازاتی مانند حساسیت و ویژگی بالا، آسان بودن روش کار، شستشوی ساده و عدم نیاز به دستگاه قرائت‌گر برای خواندن نتایج، روش مناسبی برای انجام دادن مطالعات سروپیدمیولوژیک و غربالگری بیماران در مطالعات میدانی است. تحقیق حاضر اولین مطالعه با استفاده از این روش در ایران است که نتایج آن بوضوح با روش الیزا مطابقت دارد؛ بنابراین استفاده از این روش برای مطالعات دیگر سروپیدمیولوژیک در این زمینه در کشور پیشنهاد می‌شود.

انسانی در استان ایلام می‌باشد. در بررسی دلیمی و همکاران (۱۳۸۰) بر روی گوشتخواران غرب کشور در استان ایلام نتایج زیر به دست آمده است:

در رویاه قرمز و گرگ، آلدگی به اکینوکوکوس مشاهده نشد اما از ۷۵ قلاده شغال طلایی، در یک قلاده (۱۳٪) اکینوکوکوزیس گزارش گردید [۱۴].

رفعی و همکاران (۱۳۷۸) در یک بررسی، میزان شیوع کیست هیداتیک را در استان خوزستان با روش الیزا ۱۸٪ گزارش کردند [۱۵]. کفاشیان و همکاران (۱۳۷۵) در یک بررسی شیوع بیماری کیست هیداتیک را در یک هزار نفر از عشاپر کوچروی ایل قشقابی فارس ۵٪ گزارش کردند [۱۶].

Dot- ELISA در سال ۱۹۷۸ فلجر برای اولین بار از روش در مطالعه سروپیدمیولوژیک برای تشخیص کیست هیداتیک استفاده کرد [۱۶]. در سال ۱۹۸۶ ژنگ و همکاران با استفاده از مایع خام کیست هیداتیک حساسیت و ویژگی این آزمون را بترتیب ۹۲/۳٪ و ۸۹/۹٪ به دست آوردند [۱۷]. پایپاس و همکاران نیز در سال ۱۹۸۶ با استفاده از مایع خام کیست هیداتیک حساسیت و ویژگی این آزمون را بترتیب ۹۶٪ و ۹۸٪ تعیین کرد [۱۸]. در سال ۱۹۹۱ روگان و همکاران با استفاده از آنتی ژن ب و خون کامل این روش را برای تشخیص هیداتیزوژیس به کار بردن، حساسیت و ویژگی این آزمون بترتیب ۹۴٪ و ۹۰/۳٪ تعیین شد [۱۹]. جالوسیان و همکاران نیز در سال ۱۳۷۹ روش الیزای نقطه‌ای را با آنتی ژن خام مایع کیست هیداتیک انجام دادند و حساسیت و ویژگی آن را بترتیب ۱۰۰٪ و ۹۷٪ تعیین

## ۵- منابع

- [۱] Thompson RCA. Biology and systematic of Echinococcosis. In: Echinococcus and hydatid disease, Thompson RCA., Lymbery A.J., editors. Walingford: CBA International; 1995. p. 1-50.
- [۲] Schantz P M. Parasitic zoonosis in perspective. Int. J. Parasitol 1991; 21: 161-170.
- [۳] Todorov T, Boeva V. Human Echinococcosis in bulgaria: a comparative epidemiological analysis. Bull WHO; 1999; 77(2): 110-118.
- [۴] اسلامی ع. کرم‌شناسی دامپزشکی. ج. ۲. تهران: موسسه نشر جهاد دانشگاهی؛ ۱۳۷۴. ۵۵۳-۵۵۱.
- [۵] موبدی ا، دلیمی اصل ع. اپیدمیولوژی کیست هیداتیک در جهان و ایران. تهران: انتشارات مقدم؛ ۱۳۷۳. ص. ۱۳۸-۱۴۴.
- [۶] Scantz PM, Chai J, Echert A, Craig PS. Epidemiology and control of hydatid disease. Thompson RCA., lymbery A.Y. editors.

- Walingford: CBA international, UK; 1995. p. 232-274.
- [7] Heath DD. Immunology of echinococcosis infections. In: the biology of echinococcus and hydatid disease. Thompson RCA., editor. London: Allen & Unwin, 1986. p. 164-188.
- [8] Cox FEG. Immunology in modern parasitology, 2nd ed. Cox F.E.G, editor. London: Blackwell, 1993. p.193-219.
- [9] Craig PS., Rogan M.T., and Allan J.E.; "Hydatidosis and cysticercosis-larva cestodes pp:209-236. InMedical Parasitology, a practical approach. Ed, Gillespy S.H. and Hawkey P.M., IRL-Press, Oxford, 1995.
- [10] Rogan M T. Immunological analysis of parasite molecules. In: Analytical parasitology. rogan M.T., editor. UK: Springer; 1996. p. 320-391.
- [11] Rafiei A, Craig PS, Maraghi SA. Seroepidemiological servey of human cystic echinococonsis in Iran. XXth International Congress of Hydatidology; 2001 (8-9) June: 193.
- [۱۲] غفاری فر. دلیمی اصل ع. زواران حسینی ا. تهیه ساده آنتی‌زنگاهی گروه ب اکینوکوکوس گرانولوزوس از مایع کیست هیداتیک گوستنندی و ارزیابی آن با روش الیزای نقطه‌ای مجله علوم پزشکی مدرس ۱۳۷۹؛ ۳(۲)؛ ۱۲۱۳-۱۱۹-۱۱.
- [13] Crowther J R. ELISA Theory and practice, New Jersy: Human press; 1993.
- [14] Simsek S, Koroglu E. Evaluation of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and enzyme-linked immunoelectrotransfer blot (EITB) for immunodiagnosis of hydatid diseases in sheep. Acta Tropica 2004; 92(1): 17-24.
- [15] Dalimi A, Motamedia A, Hosseini Gh, Malaki H, Ghamari Z, Ghaffarifar F. Echinococcosis hydatidosis in western Iran. Veterinary Parasitology 2002; 228: 1-11.
- [۱۶] کفashیان ف، حیاتی ا، صابر فیروزی م، قادری ع. بررسی شیوع بیماری کیست هیداتیک در عشاير کوچ روایل قشقایی فارس. مجله پزشکی کوثر ۱۳۷۸؛ ۲۵: ۳.
- [17] Felger D. Antibody activity in stick ELISA as compared to other quantitaive immunological test in Echinococcus cases. Trop. Med. Pasitol. 1978; 29: 417-422.
- [18] Zheng G Y. Dot immunovinding assay in serodiagnosis of human hydatid disease. Am J. Trop. Med. Hyg 1986; 35: 812-814.
- [19] Pappas M G. Dot- ELISA for rapid diagnosis of human hydatid disease. Diagnostic Immunology 1986; 4: 271-276.
- [20] Rogan M T. Evaluation of rapid Dot – ELISA as a field test for the diagnosis of cystic hydatid disease. Trans. Roy. Trop. Med. Hyg. 1991; 85:773-777.
- [۲۱] جالوسيان ف. راهاندازی و ارزیابی روش G-ELISA برای تشخیص سرواپیدمیولوژیکی هیداتیدوزیس و مقایسه آن با روش DOT-ELISA پایان نامه کارشناسی ارشد، تهران: دانشکده پزشکی - دانشگاه تربیت مدرس؛ ۱۳۷۹، ص. ۱۰۳-۸۲.